

F-8074

Jordan and Hamburg

F-8074

(212) 986-2340

Teruo MIYAZAKI

日 本 国 特 許 庁
JAPAN PATENT OFFICE

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出 願 年 月 日
Date of Application: 2003年10月17日

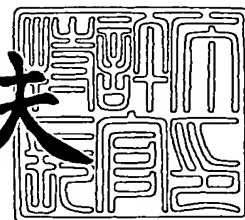
出 願 番 号
Application Number: 特願2003-357395
[ST. 10/C]: [JP2003-357395]

出 願 人
Applicant(s): 日本動物薬品株式会社

2003年10月30日

特許庁長官
Commissioner,
Japan Patent Office

今 井 康 夫



出証番号 出証特2003-3090021

【書類名】 特許願
【整理番号】 A3736JP
【提出日】 平成15年10月17日
【あて先】 特許庁長官 今井 康夫 殿
【国際特許分類】 A23K 1/18
【発明者】
 【住所又は居所】 三重県鈴鹿市国府町 2 3 0 0 - 1
 【氏名】 宮崎 照雄
【特許出願人】
 【識別番号】 393022768
 【住所又は居所】 東京都葛飾区西新小岩 4 丁目 3 7 番 9 号
 【氏名又は名称】 日本動物薬品株式会社
【代理人】
 【識別番号】 100079131
 【弁理士】
 【氏名又は名称】 石井 暁夫
 【電話番号】 06-6353-3504
【選任した代理人】
 【識別番号】 100096747
 【弁理士】
 【氏名又は名称】 東野 正
【選任した代理人】
 【識別番号】 100099966
 【弁理士】
 【氏名又は名称】 西 博幸
【手数料の表示】
 【予納台帳番号】 018773
 【納付金額】 21,000円
【提出物件の目録】
 【物件名】 特許請求の範囲 1
 【物件名】 明細書 1
 【物件名】 要約書 1

【書類名】 特許請求の範囲**【請求項 1】**

粒径が約 50 μm より小さい微小な油球が無数に集まって成る油球群を含んでおり、前記油球群は、可食性油から成っていて球形の形状が保持されており、各油球に、魚介類の生理活性化作用を持つ生理活性物質が埋め込まれた状態で保持されている、魚介類用飼料の添加剤。

【請求項 2】

前記生理活性物質は、魚介類の病原ウイルスや細菌類を不活化させたものと、魚介類に寄生する寄生虫類の粉碎物と、魚介類の免疫力を高める物質との中から選ばれた少なくとも 1 種である、

請求項 1 に記載した魚介類用飼料の添加剤。

【請求項 3】

前記油球群は懸濁液の状態で存在している、
請求項 1 に記載した魚介類用飼料の添加剤。

【請求項 4】

請求項 1 に記載した添加剤を含んでいる魚介類用飼料。

【請求項 5】

魚介類の生理活性化作用を持つ生理活性物質を材料としてその粉末又は水溶液若しくは懸濁液とのうちの何れか一つを作る前処理工程、

前記粉末と水溶液と懸濁液とのうちの何れか一つに、親油性乳化剤が添加された可食性油を混合攪拌することにより、油中に生理活性物質が均質に分散した中間混合液を作る工程、

前記中間混合液に含まれている油を無数の微小油球群に分離させる油球化工程、
とを含んでいる、

魚介類用飼料の添加剤の製造方法。

【請求項 6】

前記前処理工程において生理活性物質は水溶液と懸濁液とのうちのいずれか一つの状態になっており、

前記中間混合液を作る工程での攪拌はホモミキサーによって行われ、

前記油球化工程は、親水性乳化剤を添加して超音波加振することによって行われ、製品は油球懸濁液の態様を成している、

請求項 5 に記載した魚介類用飼料の添加剤の製造方法。

【請求項 7】

魚介類の生理活性化作用を持つ生理活性物質を素材としてその粉末と水溶液と懸濁液とのうちの何れか一つを作る前処理工程、

前記粉末と水溶液と懸濁液とのうちの何れか一つに、親油性乳化剤が添加された可食性油を混合攪拌することにより、油中に生理活性物質が均質に分散した中間混合液を作る工程、

前記中間混合液中の油を無数の微小油球群に分離してこれを魚介類用飼料の基材に含ませる添加工程、

を含んでいる、

魚介類用飼料の製造方法。

【請求項 8】

前記飼料基材は多孔質のペレット状であり、前記添加工程では、中間混合液をスプレー装置で微小油球群と成してこれを飼料基材の表面に吹き付けるものであり、

前記飼料基材がペースト状である場合は、中間混合液をスプレー装置で微小油球群と成してこれを飼料基材に練り込むものである、

請求項 7 に記載した魚介類用飼料の製造方法。

【請求項 9】

前記前処理工程において生理活性物質は水溶液と懸濁液とのうちの何れかの状態であり

、且つ、前記飼料基材はペースト状であり、
前記添加工程では、中間混合液が飼料基材に練り込まれる、
請求項 7 に記載した魚介類用飼料の製造方法。

【書類名】 明細書**【発明の名称】 魚介類用飼料及びその添加剤並びにこれらの製造方法****【技術分野】****【0001】**

本発明は、魚介類用飼料及びその添加剤並びにこれらの製造方法に関するものである。この魚介類には、魚類、貝類、蟹類、海老類のような各種の水性動物が含まれる。また、飼料には養殖用のものと観賞魚用との両方が含まれる。そして、本願発明の対象の一つである添加剤は、魚介類の生理作用を活発化し、免疫力を高める機能を持っている。

【背景技術】**【0002】**

近年、天然水産資源の減少に伴って魚介類の養殖が世界各地で大規模に行われている。また、観賞魚の飼育も盛んに行われている。水族館による飼育も観賞用飼育の一種に分類して良いであろう。

【0003】

養殖や観賞用飼育のように人の管理の下で飼育される魚は病気に罹りやすい。その理由は、生け簀や養魚池、水槽で魚介類が過密状態で飼育されていることに主因があり、一匹が病気に感染すると他の魚介類も瞬く間に感染してしまい、生け簀全体や養魚池の全体の魚が全滅することも多い。

【0004】

養殖魚において病原菌の感染率が高い原因を更に検討すると、養殖魚介類は天然魚介類に比べて活力が低く、病原菌への抵抗力が弱いことが挙げられる。養殖魚の活力が低い原因として、過密飼育に起因した運動不足や高ストレス、水質悪化の問題などが挙げられるだろう。

【0005】

いずれにしても、養殖魚の病気対策は養殖業者にとって切実な問題であり、予防策が研究されている。その例として日本国特許公開 2001-8689 公報では、魚の表面に注射針等の器具で傷をつけて、傷口から薬剤を魚体内に浸透させるという薬剤接種方法と、この薬剤接種に用いる装置とが開示されている。

【発明の開示】**【発明が解決しようとする課題】****【0006】**

しかしながら、この方法は、作業に多大の手間がかかってコストが嵩むという問題や、稚魚には適用し難いという問題、或いは魚に与えるストレスが大きいといった問題を抱えており、汎用性が高いとは言えない。

【0007】

他方、薬剤や栄養補助剤を飼料に配合することも行われている。この方法は、自然な摂餌を通じて薬剤や栄養補助剤を摂取させるため、上記のような問題はない。しかし、単に薬剤等を飼料に混ぜただけでは、薬剤や栄養補助剤が胃液で分解されて有効性が低下したり、吸収されずに排泄されてしまう割合が高いといった問題があり、吸収効率の点で問題がある。

【0008】

本発明は、このような現状を改善すべく成されたものである。そして、本願発明の目的は、魚介類の生理活性化作用が高い飼料とその添加剤とを提供することにある。また、本願発明の他の目的は、魚介類の生理活性化作用に優れた飼料及びその添加剤の製法を提供することにある。

【課題を解決するための手段及び発明の効果】**【0009】**

ところで、人間を初めとした哺乳類が油分を食物や飼料として摂取すると、油分は胆汁や膵液等に含まれる酵素により、腸で脂肪酸とグリセリンに分解されて吸収される。

【0010】

これに対して魚介類のような水性動物は、酵素の働きが発達していないため、摂取した油分を微小な球状の形態に成して腸で貪欲に取り込み吸収する性質を持っている。

【0011】

本願発明者は、このような魚介類に特有の消化系統の働きに着目し、本願発明を完成させるに至った。

【0012】

本願発明は、飼料用添加剤と、この添加剤を配合した飼料と、添加剤及び飼料の製造方法とを含んでいる。

【0013】

本願発明の添加剤は、粒径が約 $50\mu\text{m}$ より小さい（好適には $10\mu\text{m}$ より小さい）微小な油球が無数に集まって成る油球群を含んでいる。前記油球群は、可食性油から成っていて球形の形状が保持されており、各油球に、魚介類の生理活性化作用を持つ生理活性物質が埋め込まれた状態で保持されている。

【0014】

本願発明の添加剤を構成する油球は、全体が油のみからなる単純なものである。そして、飼料の一部として魚介類に摂取させると、油球群は魚介類の胃を経て腸に至り、腸管上皮から取り込まれ、体内に吸収される。この油球を吸収する過程で、油球に含まれていた生理活性物質も一緒に体内に吸収される。これにより、生理活性物質の機能が発揮される。

【0015】

本願発明によると、通常の給餌作業により、添加剤が持つ生理活性作用を魚介類に付与できる。このため、魚介類の耐病性や免疫力を高めるに当たって特別の作業（例えばアジュバンドを使用した作業）は不要であり、かつ、稚魚にも何らの障害なく適用でき、更に、魚介類にストレスを与えることも皆無である。そして、油球は魚介類の腸管で貪欲に吸収されるため、生理活性物質の吸収効率は格段に高い。

【0016】

本願発明において、油は魚介類が摂取できるものなら何でも良く、種類は問わない。例えば、イカ肝油、タラ肝油、イワシ油、アンチョビー油のような魚油、菜種油、コーンオイル、大豆油、パーム油、オリーブ油のような植物油などが挙げられる。複数種類の油が混合していてもよい。

【0017】

生理活性物質は目的に応じて様々のものを使用できる。特定の病気への抵抗力を高めたい場合は、病気を引き起こす原因となるものを利用する。例えば、ウイルスや細菌が原因の病害への抵抗力を高めたい場合は、その病原体の不活化菌や遺伝子組み換え体のタンパク質を使用し、寄生虫が原因の病害への抵抗力を高めたい場合は、その寄生虫の粉碎物を使用する。

【0018】

病害一般に罹りにくい活力のある魚介類を得たい場合は、一般的に免疫力を高める物質や栄養補助品を使用したら良い。具体的には、各種の抗体、インターフェロン、ビタミン類、ホルモン剤、酵素類が挙げられる。アガリスクやフコイダンも考慮に値する。もちろん、これらは例示に過ぎず、植物性素材、動物性素材、化学合成物質等の中から適宜選択することができる。生理活性物質は一種類のみ使用しても良いし、複数種類を混合して使用することも可能である。

【0019】

油球群は、懸濁液の状態で存在させているのが好ましい。これは、液の中で油球が均質に分散しかつ球の形状が保持されるからである。また、本願発明の特徴の一つは添加剤が飼料に配合されることであるが、懸濁液の状態であると油球群を希釈したのと同じになるため、添加剤を飼料にまんべんなく分散できる利点もある。

【0020】

添加剤の製造方法は、生理活性物質を粉末又は水溶液若しくは懸濁液を作る前処理工程

、前記粉末又は水溶液若しくは懸濁液に、親油性乳化剤が添加された可食性油を混合攪拌して、油中に生理活性物質が均質に分散した中間混合液を作る工程、中間混合液の油を無数の微小な油球群に分離する工程とを備えている。

【0021】

前処理工程で生理活性物質が水溶液又は懸濁液であると、製品は油球懸濁液の態様になっている。このため保存や運搬に便宜である。

【0022】

生理活性物質を油中に均質に分散させて中間混合液となす工程では、ホモミキサーで攪拌するのが好ましい（勿論、他の装置を使用しても良い）。油球化工程を超音波の加振で行うと、粒径が数 μm の油球を簡単に製造できる利点がある。添加剤の製法において、中間混合液の状態で生理活性物質は油の中にまんべんなく分散する。そして、次の油球化工程で、生理活性物質は油球の中に埋め込み包まれた状態に保持される。換言すると、生理活性物質が油球に担持される。本願製法により、魚介類の生理活性機能を高めることのできる添加剤の商業的生産が可能となる。

【0023】

魚介類の生理活性作用を高めた飼料の製法には、製品化された添加剤を飼料基材に加える方法と、添加剤の中間品を飼料基材に添加する方法とがある。後者の方法は本願発明の一つであり、前記添加剤の製法に準じて中間混合液を作り、この中間混合液に含まれている油を無数の微小油球群に分離して、この微小油球群を飼料の基材に添加するものである。

【0024】

中間混合液の油を微小油球群に分離する油球化は、スプレー装置によって中間混合液をミスト化することで簡単に実現できる。そして、飼料基材がペレット状である場合は、ミスト化された中間混合液を飼料基材の表面に吹き付ければ良く、飼料基材がペースト状である場合は、ミスト化された中間混合液を飼料基材に練り込めば良い。前処理状態で生理活性物質が水溶液又は懸濁液である場合は、中間混合液の状態で油は水の中で微小な油球群に分かれている。このため、この中間混合液をそのままペースト状の飼料基材に練り込むことも可能である。

【0025】

本願発明に係る飼料の製法により、魚介類の生理活性化作用に優れた飼料を能率良くかく低コストで製造することができる。

【発明を実施するための最良の形態】

【0026】

次に、本願発明の具体的な態様を説明する。まず、添加剤の製造方法の具体例を説明する。

【0027】

(1). 製法の例

まず、第1工程（前処理工程）として、生理活性物質を水溶化また懸濁化可能な状態に処理しておく。例えば、非水溶性で固体の物質の場合は微細な粉末に処理しておく。水溶液となるか懸濁液となるかは生理活性物質の性状によって異なる。生理活性物質の含有率は特に限定はない。

【0028】

次に、第2工程として、前記した粉末や水溶液又は懸濁液に、親油性乳化剤が添加された魚油を混合して中間混合液を作る。中間混合液に占める魚油の混合比率は生理活性物質の種類や量によって変動するが、一般的には、1～10wt%が好ましい。生理活性物質が抗体のような粉末状物質である場合は、その粉末に魚油を混合することが可能であり、この場合は、中間混合液に占める魚油の割合は100%になる。

【0029】

魚油に対する親油性乳化剤の混合割合は、好ましくは1～10wt%であり、特に好ましくは5wt%程度である。

【0030】

次に、第3工程として、前記中間混合液をホモミキサーで攪拌するか、中間混合液に超音波発生器で超音波を加えることにより、生理活性物質が均質に分散した状態の油を作る。

【0031】

次に、第4工程として（或いは別工程として）、親水性（水溶性）乳化剤を1～数%（すなわち10%未満）含む水溶液を作る。この水溶液に第3工程で作った油を加えて、超音波で加振して攪拌する。これにより、油を油球化させる。換言すると、油球懸濁液の懸濁状態を安定化させる。

【0032】

なお、親油性及び親水性の乳化剤の種類に限定はないが、安全性の点から公的機関（例えば米国ならFDA、日本なら厚生労働省）が食品添加物として認定しているものが好ましい。日本の場合であると、親油性乳化剤としては、例えば、太陽化学株式会社が「サンソフト#818R」の商品名で販売しているものを使用でき、また、親水性乳化剤としては、同社が「サンソフトQ-812S」の商品名で販売しているものを使用できる。両商品とも脂肪酸エステルであり、日本の厚生労働省から食品添加物としての認可を受けている。

【0033】

親水性の乳化剤で油球の形状を安定化させることにより、油球懸濁液の外観を呈する添加剤が完成する（なお、添加剤を保存する場合は、冷蔵保存することが望ましい）。

【0034】

そして、この添加剤を魚介類用の飼料基材に添加する。飼料基材が多孔質のドライペレット状である場合は、添加剤を飼料基材に散布したり、飼料基材を添加剤に浸漬すれば良い。これにより、添加剤を飼料に容易に吸着させることができる。他方、飼料がペースト状である場合には、油球懸濁液を混ぜて混練すればよい。混練しても油球はその形状を失うことなく、飼料の中に存在している。このため魚介類の腸で効率的に吸収される。

【0035】

前記した第3工程で得られた油（中間混合液）を飼料基材に添加することも可能である。この場合、スプレー装置でミスト化することにより、油を油球群に分離させることができる。

【0036】**(2). 検証実験1**

次に、本願発明の効果を確認する検証実験例を紹介する。

【0037】

本実験は、ヒラメやウナギに多く見られるエドワージエラ病に対する免疫賦活効果を確認したもので、ヒラメ養殖池での実証的な実験である。

【0038】

生理活性物質としては、ホルマリンで処理した*Edwardsiella tarda* を使用し、添加剤を製造した。すなわち、*Edwardsiella tarda* の培養、遠心分離による不純物の除去、ホルマリンによる死滅処理、洗浄によるホルマリンの除去、という順序で不活化菌を得て、この不活化菌を材料として前記製法で処理することによって添加剤としての油球懸濁液を製造し、この添加剤をヒラメ用のドライペレット飼料基材に吸着させることにより、*Edwardsiella tarda* に基づく生理活性物質を含有する飼料を製造した。

【0039】

そして、養殖池において、この飼料を、魚体重100g当たり0.05mlの割合で3日間、ヒラメ（平均体重100g、3000尾）に自由摂餌させた。そして、最終投与から3週間後に尾動脈から採血し、血清中の抗*Edwardsiella tarda* 抗体の抗体価を凝集価として計測した。その結果を表1に示す。

【0040】

表1において、グループ1、2の魚群は本願発明の飼料を与えたもので、本願発明の飼

料を与えていないグループ3の魚群に比べて、血清中の抗*Edwardsiella tarda*抗体が大幅に増えている。このことから、本願発明の添加剤の効果が実証されている。

【0041】

表1のグループ4は、ホルマリン処理した*Edwardsiella tarda*の菌体とイカ肝油と乳化剤とを混和しただけのものを投与した魚群であり、このグループ4の魚群には抗体価の上昇は全く認められなかった。これは、単に生理活性物質を油に混ぜて飼料に添加しただけでは免疫活性化作用は期待できないことを意味している。

【0042】

以上の実験から、不活化菌体を微小な油球群に担持させてこれを飼料と共に魚体に給餌すると、油球に担持された菌体が腸管から魚体内に効率的に取り込まれ、免疫システムを刺激し活性化させることが実証された。また、抗体の力価は128から1024（2の7乗から2の10乗）あり、このような力価の抗体をもつ魚は、各種の病原細菌の侵入に対して充分な防御反応を期待することができる。

【0043】

(3). 検証実験2

本願発明者は、更に本願発明品の免疫効果を確認すべく実験を行った。その結果を表2に示している。

【0044】

この実験では、不活化*Edwardsiella tarda*菌が包埋された添加剤を製造し、この添加剤を多孔質ペレット状のヒラメ用飼料基材に浸透させて本願発明の飼料と成し、この飼料をヒラメに投与した。各種の条件は検証実験2と同じである。

【0045】

そして、本願発明の飼料を投与してから23日目にサンプルとして15尾を取り上げ、そのうちの5尾から血液を採取して血清抗体価を測定した。また、残りの10尾には*Edwardsiella tarda*の生菌を攻撃菌として筋肉に注射し、14日間飼育して生存率を確認した。攻撃菌として 10^5 cfu/mlの菌液を使用し、これを0.3ml注射した。

【0046】

比較例は通常の飼料のみを与えたヒラメの群であり、本願発明品投与魚と同様に、サンプルとして15尾を取り上げて、そのうちの5尾については血清抗体価を測定し、残りの10尾にはついては*Edwardsiella tarda*の生菌を注射して14日間の生存率を確認した。

【0047】

表2にあるように、本願発明に係る飼料を投与すると、生菌の注射という過酷な条件の下でも50%が生存がしており、有意に高い生存率を示している。

【0048】

【表 1】

	不活化菌包埋油球摂取魚		比 較 魚	
	抗 体 価		抗 体 価	
	グループ 1	グループ 2	グループ 3	グループ 4
魚体 1	2 5 6	3 2	1 6	4
魚体 2	1 0 2 4	1 0 2 4	1 6	2
魚体 3	6 4	2 5 6	2	8
魚体 4	6 4	1 2 8	6 4	1 6
魚体 5	3 2	2 5 6	4	3 2
魚体 6	2 5 6	1 2 8		2
魚体 7	1 2 8	1 0 2 4		2
魚体 8	1 2 8	1 0 2 4		1 6
魚体 9	1 2 8	2 5 6		1 6
魚体 10	2 5 6	3 2		6 4

- 1) 1 グループの魚体数: 3 0 0 0 匹
 2) グループ 1: 10%可食性油+ホルマリン処理エドワージエラ菌 (10^9 cfu/ml) を摂取
 3) グループ 2: 1%可食性油+ホルマリン処理エドワージエラ菌 (10^7 cfu/ml) を摂取
 4) グループ 3: 通常飼育
 5) グループ 4: 不活化エドワージエラ菌と過食性油との混和物を摂取
 6) 抗体価は最終投与から3週間後に測定
 7) 水温は23~25℃

【0049】

【表 2】

		不活化菌包埋 油球摂取魚		比 較 例	
抗 体 価		魚体 1	1 0 2 4	魚体 1	2
		魚体 2	1 0 2 4	魚体 2	4
		魚体 3	2 5 6	魚体 3	2
		魚体 4	3 2	魚体 4	1 6
		魚体 5	6 4	魚体 5	1 6
		死 亡 数		死 亡 数	
注射後の 経過日数	7	0		0	
	8	0		0	
	9	0		1	
	10	0		4	
	11	1		1	
	12	1		0	
	13	3		1	
	14	0		3	
死 亡 率		5 0 %		1 0 0 %	

【書類名】 要約書**【要約】**

【課題】 魚介類の生理活性作用に優れた飼料用添加剤を提供する。

【手段】 添加剤は、無数の微小油球群を有しており、油球群には生理活性物質が担持されている。油球は魚介類の腸管で効率的に吸収される。添加剤は、生理活性物質の水溶液又は懸濁液を作る工程、水溶液又は懸濁液に原料油を混ぜて中間混合液を作る工程、ホモミキサーや超音波加振によって油を無数の微小油球に分離させて油球懸濁液を作る工程、油球懸濁液に親水性乳化剤を加えて攪拌することによって懸濁液状態を安定化する工程、の各工程を経て製造される。

特願 2003-357395

出願人履歴情報

識別番号

[393022768]

1. 変更年月日

1993年 8月24日

[変更理由]

新規登録

住 所

東京都葛飾区西新小岩4丁目37番9号

氏 名

日本動物薬品株式会社